



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

CASSIANO KAHLOW

**CRIA PÚTRIDA AMERICANA EM APIÁRIOS DO PARANÁ:
ESTUDO DE CASO DA PRIMEIRA OCORRÊNCIA DA DOENÇA
NO BRASIL E PROPOSTA SANITÁRIA**

Londrina
2019

CASSIANO KAHLOW

**CRIA PÚTRIDA AMERICANA EM APIÁRIOS DO PARANÁ:
ESTUDO DE CASO DA PRIMEIRA OCORRÊNCIA DA DOENÇA
NO BRASIL E PROPOSTA SANITÁRIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Mestrado Profissional em Clínicas Veterinárias, do Departamento de Clínicas Veterinárias da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Clínicas Veterinárias.

Orientador: Prof. Dr. Wilmar Sachetin Marçal

Londrina
2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Kahlow, Cassiano.

Cria Pútrida Americana em Apiários do Paraná : Estudo de Caso da Primeira Ocorrência da Doença no Brasil e Proposta Sanitária / Cassiano Kahlow. - Londrina, 2019.
37 f. : il.

Orientador: Wilmar Sachetin Marçal.

Dissertação (Mestrado Profissional em Clínicas Veterinárias) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Clínicas Veterinárias, 2019.

Inclui bibliografia.

1. Loque Americana - Tese. 2. Mortalidade em Abelhas - Tese. 3. Sanidade Apícola - Tese. 4. Saúde Animal - Tese. I. Sachetin Marçal, Wilmar. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Clínicas Veterinárias. III. Título.

CASSIANO KAHLOW

**CRIA PÚTRIDA AMERICANA EM APIÁRIOS DO PARANÁ:
ESTUDO DE CASO DA PRIMEIRA OCORRÊNCIA DA DOENÇA NO
BRASIL E PROPOSTA SANITÁRIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Mestrado Profissional em Clínicas Veterinárias, do Departamento de Clínicas Veterinárias da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Clínicas Veterinárias.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Wilmar Sachetini Marçal
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Prof. Dr. Gerson Nakazato
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profa. Dra. Kássia Amariz Pires Menolli
Universidade Filadélfia - UNIFIL

Londrina, 21 de fevereiro de 2019.

KAHLOW, Cassiano. **Cria pútrida americana em apiários do Paraná**: estudo de caso da primeira ocorrência da doença no Brasil e proposta sanitária. 2019. 37 f. Dissertação (Mestrado Profissional em Clínicas Veterinárias) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

RESUMO

O Paraná é, de acordo com os resultados da Produção da Pecuária Municipal (PPM) referentes ao ano de 2015 do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), o maior produtor de mel de abelhas com ferrão (*Apis mellifera*) do Brasil, com 6,29 mil toneladas de mel produzidas. Esse panorama reforça a necessidade de contínuas ações de sanidade e biomonitoramento, visando propiciar excelência na produção e produtividade de mel na cadeia do agronegócio. Por outro lado, a Cria Pútrida Americana CPA é umas das doenças bacterianas mais deletérias nas abelhas, embora afete apenas os estágios de larva e é a única doença de notificação que pode ser transmitida pelo mel, tendo uma enorme importância no comércio de produtos apícolas. Sua única ocorrência no Brasil se deu em apiários do Paraná, sendo notificada à (OIE) Organização Mundial de Saúde Animal em 2006, quando foi erradicada no final daquele mesmo ano. A Agência de Defesa Agropecuária do Paraná (ADAPAR) caracteriza-se como autoridade veterinária oficial, competente e responsável pela saúde das abelhas no estado, tendo sido encarregada em atuar, em conjunto com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, no foco em questão. Este trabalho teve como objetivo relatar a única ocorrência de CPA no Brasil e às ações do serviço oficial do início da notificação até o saneamento do foco, apontando as principais dificuldades encontradas à época, bem como apresentar uma revisão bibliográfica da doença, com informações mais atualizadas a respeito do agente e do seu controle, possibilitando vigilância e profilaxia nesse importante segmento rural.

Palavras-chave: Loque americana. Mortalidade em abelhas. Sanidade apícola. Saúde animal.

KAHLOW, Cassiano. **American foulbrood in Parana's apiaries:** case study of the first occurrence of the disease in Brazil. 2019. 37 p. Dissertation (Master's Degree in Veterinary Clinics) - State University of Londrina, Londrina.

ABSTRACT

Paraná is, according to the results of the 2015's Municipal Livestock Production (PPM) from the Brazilian Institute of Geography and Statistics (IBGE), the largest *Apis mellifera*'s honey producer in Brazil, with 6.29 thousand tons of honey produced. This scenario reinforces the need for continuous sanitation and biomonitoring actions, aiming to provide excellence in honey production and productivity in the agribusiness chain. On the other hand, the American Foulbrood (AFB) one of the most deleterious bacterial honey bee diseases though affecting only the larval stages of bees is the only notifiable disease that can be transmitted by honey, having a huge importance in the trade of bee products. Its only occurrence in Brazil was in apiaries in Paraná and it was notified to the (OIE) World Organization of Animal Health in 2006, when it was eradicated at the end of that year. The Animal and Plant Health and Inspection Agency (ADAPAR) is characterized as the official veterinary authority, competent and responsible for bee health in the state, and has been charged, together with the Ministry of Agriculture, Livestock and Supply to act in the outbreak. This paper aims to report this single occurrence of AFB in Brazil and the actions of the veterinary official service from the beginning of the notification until the sanitation of the focus, pointing out the main difficulties encountered at the time, as well as presenting a bibliographic review of the disease, with more updated information about the agent and its control, allowing surveillance and prophylaxis in this important rural segment.

Key words: American foulbrood. Mortality in bees. Bee health. Animal health.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Mapa de focos de CPA no mundo, de 2005 a 2019	12
Figura 2 -	O ciclo de vida e transmissão de <i>Paenibacillus larvae larvae</i> na colmeia	14
Figura 3 -	Linha viscosa que se forma ao espetar com um palito (ao fundo, as crias desoperculadas, em forma de pimenteiro)	16
Figura 4 -	Descontaminação de material apícola com Virkon S ®.....	21
Figura 5 -	Imagem via satélite cedida pela ADAPAR, da propriedade foco	25
Figura 6 -	Notificação oficial da ocorrência de CPA no Brasil, publicada pela OIE	27
Figura 7 -	Linha do tempo do evento sanitário	31
Quadro 1 -	Nomenclaturas e definições.....	10
Quadro 2 -	Relação entre temperatura e tempo necessário para destruir <i>Paenibacillus larvae larvae</i> em diferentes meios	18
Quadro 3 -	Cronologia dos acontecimentos.....	29

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABEMEL	Associação Brasileira dos Exportadores de Mel
ADAPAR	Agência de Defesa Agropecuária do Paraná
CCCSA	Comitê Consultivo Científico em Sanidade Apícola
CPA	Cria Pútrida Americana
CPE	Cria Pútrida Europeia
DEFIS	Departamento de Fiscalização
FORM-COM	Formulário de Investigação Complementar
FORM-IN	Formulário de Investigação Inicial
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
LANAGRO	Laboratório Nacional Agropecuário
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
OIE	Organização Mundial de Saúde Animal
PCR	Reação em Cadeia de Polimerase
PPM	Produção da Pecuária Municipal
SVO	Serviço Veterinário Oficial
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
WAHID	World Animal Health Information Database

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	10
2.1	ETIOLOGIA E DADOS HISTÓRICOS	10
2.2	EPIDEMIOLOGIA	11
2.3	PATOGENIA	15
2.4	SINAIS CLÍNICOS.....	16
2.5	DIAGNÓSTICO	17
2.6	RESISTÊNCIA DA BACTÉRIA.....	17
2.7	PREVENÇÃO E CONTROLE.....	18
2.7.1	Métodos de Controle.....	19
2.7.1.1	Destruição das colmeias.....	19
2.7.1.2	Método de sacudimento	19
2.7.1.3	Quimioterapia	20
2.7.1.4	Descontaminação	20
3	OBJETIVOS	22
3.1	OBJETIVO GERAL	22
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
4	METODOLOGIA	23
5	DESCRIÇÃO DA OCORRÊNCIA DE CPA NO PARANÁ	24
5.1	HISTÓRICO DA CPA NO BRASIL	24
5.2	COMUNICAÇÃO DA SUSPEITA AO SVO.....	24
5.3	CARACTERIZAÇÃO DA PROPRIEDADE FOCO	24
5.4	AÇÕES DO SERVIÇO OFICIAL.....	25
5.4.1	Confirmação do Foco.....	26
5.4.2	Zona de Vigilância.....	27
5.4.3	Saneamento do Foco	28
5.4.4	Ações de Perifoco	28

6	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
7	CONCLUSÕES.....	34
	REFERÊNCIAS.....	35

1 INTRODUÇÃO

A cadeia apícola é bastante expressiva no Brasil. Em termos de volume exportado, o país se encontra na 9ª posição mundial, com aproximadamente 25 mil quilos de mel comercializado, gerando uma riqueza de quase de 122 milhões de dólares em 2017, segundo a Associação Brasileira dos Exportadores de Mel (ABEMEL, 2018). O Paraná é o maior produtor de mel do Brasil, com produção anual de 6.290 toneladas, de acordo com dados de 2015, o último publicado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, sendo que Arapoti e Ortigueira, ambos no Paraná, são os dois municípios com a maior produção nacional (IBGE, 2015).

Todavia, não obstante tais conquistas, ainda diferentes enfermidades acometem as abelhas melíferas e algumas requerem uma atenção especial, devido à sua patogenia e às perdas econômicas que elas causam. A Cria Pútrida Americana (CPA) é uma das mais importantes entre estas. É uma doença dos estágios de larva e pupa das abelhas melíferas *Apis mellifera* e outras abelhas gênero *Apis spp.*, e que ocorrem na maioria dos países onde estas abelhas são mantidas (WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH, 2019). Sua ocorrência é de notificação obrigatória imediata à Organização Mundial de Saúde Animal, em qualquer caso suspeito.

O organismo causador da doença, *Paenibacillus larvae* subs *larvae*, é uma bactéria que pode produzir mais de um bilhão de esporos em cada larva infectada. Os esporos sobrevivem por longo tempo e são extremamente resistentes ao calor e agentes químicos. Apenas os esporos são capazes de causar a doença (WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH, 2019).

Em 2006, foi notificado o primeiro foco de Cria Pútrida Americana no Brasil, após confirmação laboratorial, no estado do Paraná. Compete à Agência de Defesa Agropecuária do Paraná (ADAPAR) atuar nos focos destas enfermidades, sendo ela o órgão oficial responsável pela saúde das abelhas (WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH, 2019).

Este trabalho teve o objetivo de revisar a doença CPA e relatar a atuação do serviço oficial estadual, na época chamado de Departamento de Fiscalização (DEFIS), em conjunto com o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), no foco de 2006, desde a primeira notificação até o saneamento, fornecendo subsídios à Agência de Defesa Agropecuária do Paraná (ADAPAR), para elaboração de um plano de contingência para esta enfermidade, com aplicações práticas de vigilância sanitária e profilaxia em apiários.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

As abelhas são importantes polinizadores para as culturas de produção de vegetais, frutas e flores. Contudo, elas são indispensáveis não só para uma agricultura sustentável e rentável, mas também para a manutenção dos ecossistemas silvestres. As abelhas melíferas são acometidas por inúmeros patógenos, incluindo vírus, bactérias, fungos e parasitas (GENERSCH, 2008).

Uma das doenças mais importantes economicamente é a Cria Pútrida Americana. Como o nome sugere, elas infectam apenas os estágios larvais das abelhas melíferas. A CPA é ainda uma das mais deletérias doenças em abelhas, não somente porque é capaz de matar os indivíduos acometidos, mas também por ser potencialmente letal para toda a colônia infectada (GENERSCH, 2008), originando prejuízos significativos na cadeia apícola.

O Quadro 1 apresenta as principais nomenclaturas comumente utilizadas na apicultura, buscando facilitar o entendimento do leitor na compreensão do trabalho.

Quadro 1- Nomenclaturas e definições

Nome	Definição
Colmeia	Grupo de abelhas. Colônia. Pode ser criada em caixas.
Apiário	Conjunto de colmeias com manejo produtivo comum.
Melgueira	Parte da caixa onde as abelhas constroem os favos de mel.
Quadros de cria	Parte da caixa onde as abelhas constroem os favos de cria, que contêm os ovos, larvas e pupas.
Foco índice	É o primeiro caso de determinada enfermidade registrado em determinada área.
Foco primário	É o primeiro caso de determinada enfermidade a ocorrer em determinada área.

Fonte: o próprio autor

2.1 ETIOLOGIA E DADOS HISTÓRICOS

A história da CPA presumivelmente data da época de Aristóteles (384-322 a.C.), que descreveu no seu livro IX da “História dos Animais” uma condição enferma que “indica uma lassidão em parte das abelhas e mau odor da colmeia”. Embora a descrição de Aristóteles não seja suficiente para identificar a Cria Pútrida Americana, fica claro que as abelhas já eram semelhantes às atuais e que as doenças de cria que hoje chamamos de Cria Pútrida Americana e Cria Pútrida Europeia provavelmente já existiam na antiguidade (GENERSCH, 2008).

Em 1769, Schirach deu o nome de “cria pútrida” (*foulbrood*) para uma condição de enfermidade de cria em abelhas melíferas (*Apis mellifera*). Desde então, diversos autores têm nomeado as mais diferentes desordens como “cria pútrida” e não é possível saber a quais destas doenças Schirach originalmente se referia (HANSEN; BRØDSGAARD, 1999). Em

1885 na Inglaterra, Cheshire e Cheyne determinaram a origem de uma das doenças que causam a cria pútrida e nomearam o patógeno de *Bacillus alvei*. Esta doença foi chamada posteriormente de Cria Pútrida Europeia (CPE), porque foi descrita primeiramente por um pesquisador na Europa. White demonstrou em 1914 que a causa da CPE era o *Bacillus pluton*. A bactéria foi posteriormente reclassificada para *Streptococcus pluton* e recentemente para *Melissococcus pluton* (HANSEN; BRØDSGAARD, 1999).

Em 1903, White observou que outro patógeno estava associado com uma das outras condições de doença em crias também chamadas de cria pútrida e nomeou a bactéria *Bacillus larvae*. Esta doença foi chamada de Cria Pútrida Americana porque as investigações foram realizadas no estado de Nova Iorque nos Estados Unidos da América. Posteriormente, *Bacillus larvae* foi reclassificado como *Paenibacillus larvae* subs *larvae* (HANSEN; BRØDSGAARD, 1999).

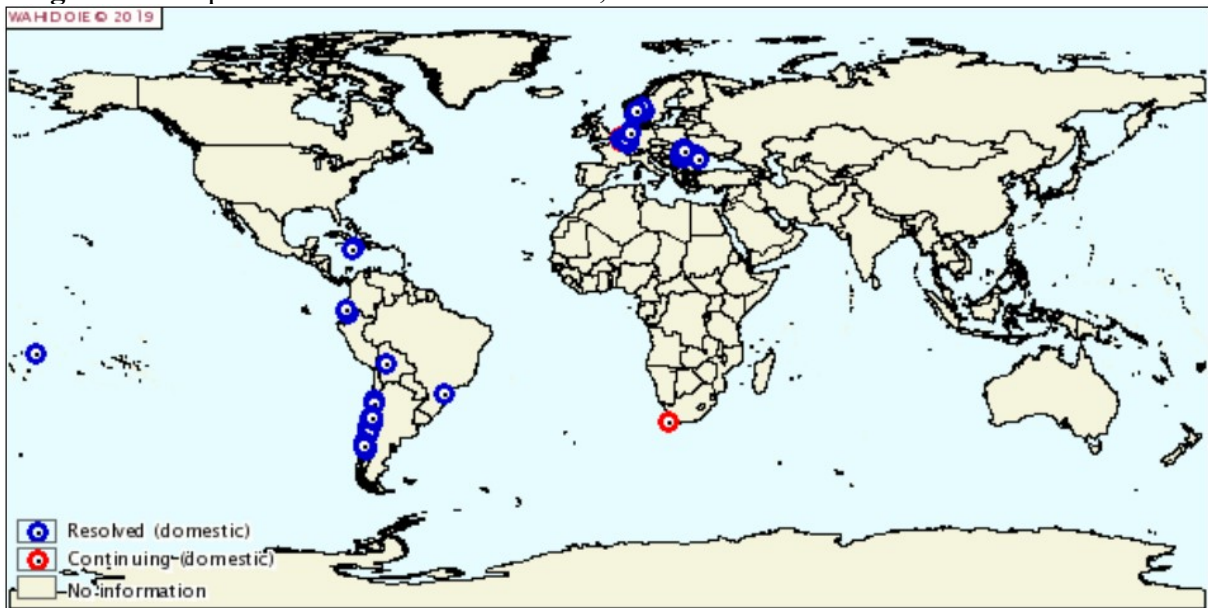
Paenibacillus larvae é uma bactéria cilíndrica em forma de bastonete, Gram-positiva, com cerca de 2,5 -5 µm por 0,5-0,8 µm, móvel devido a flagelos, anaeróbica facultativa e catalase negativa (GENERSCH, 2008). Depois de quatro dias a 35° C, quando cultivados em J-agar, as colônias apresentam-se côncavas esbranquiçadas, com superfície rugosa e alcançam aproximadamente 4-5 mm de diâmetro (HANSEN; BRØDSGAARD, 1999). Os esporos são de aproximadamente 1,3 µm x 0,6 µm em tamanho.

2.2 EPIDEMIOLOGIA

Apesar do seu nome comum, a doença tem distribuição mundial, com exceção da África subsariana e da Índia. Em 1980, a bactéria da CPA foi encontrada pela primeira vez na América do Sul, em mel Argentino. Em 1989, o primeiro foco de CPA foi registrado naquele país (ALIPPI, 1991).

Em consulta ao site oficial da OIE, é possível observar o mapa de focos para a CPA, de 2005 até 2019, conforme destacado na Figura 1, a seguir:

Figura 1 - Mapa de focos de CPA no mundo, de 2005 a 2019.



Fonte: World Organisation for Animal Health (2019).

As espécies de *Paenibacillus larvae* podem ser subdivididas em quatro diferentes genótipos baseados em rep-PCR (VERSALOVIC *et al.*, 1994) usando ERIC-primers. Estes genótipos foram designados de ERIC I a ERIC IV (GENERSCH *et al.*, 2006). Estudos epidemiológicos de incidência e prevalência destes genótipos ainda são escassos (GENERSCH, 2008).

Faz-se necessário conhecer a transmissão do *Paenibacillus larvae* entre as colônias para entender a epidemiologia da CPA e avaliar a disseminação do patógeno no apiário e entre apiários. Enquanto a maioria das doenças em abelhas seja transmitida principalmente por via vertical, a CPA foi considerada o paradigma de uma doença de abelhas transmitida horizontalmente (FRIES; CAMAZINE, 2001). Este cenário está mudando com os relatos de transmissão de esporos de *Paenibacillus larvae* por via vertical entre colônias, através de enxameamentos e subsequentes focos da doença (FRIES; LINDSTROM; KORPELA, 2006). A transmissão horizontal da *Paenibacillus larvae* entre as colônias ocorre principalmente por abelhas saqueadoras e abelhas errantes (Figura 2).

Abelhas saqueadoras são forrageiras de uma colônia que invadem a outra colônia para saquear mel. Normalmente, as saqueadoras são oriundas de colônias fortes, enquanto que as colônias invadidas são geralmente caracterizadas por terem uma guarda ineficaz, por estarem enfraquecidas ou doentes. Se a colônia atacada estiver acometida com CPA, a abelha saqueadora pode trazer esporos de *Paenibacillus larvae* para o seu ninho, seja aderido na superfície do seu corpo ou no mel estocado no seu estômago. Dando suporte às noções

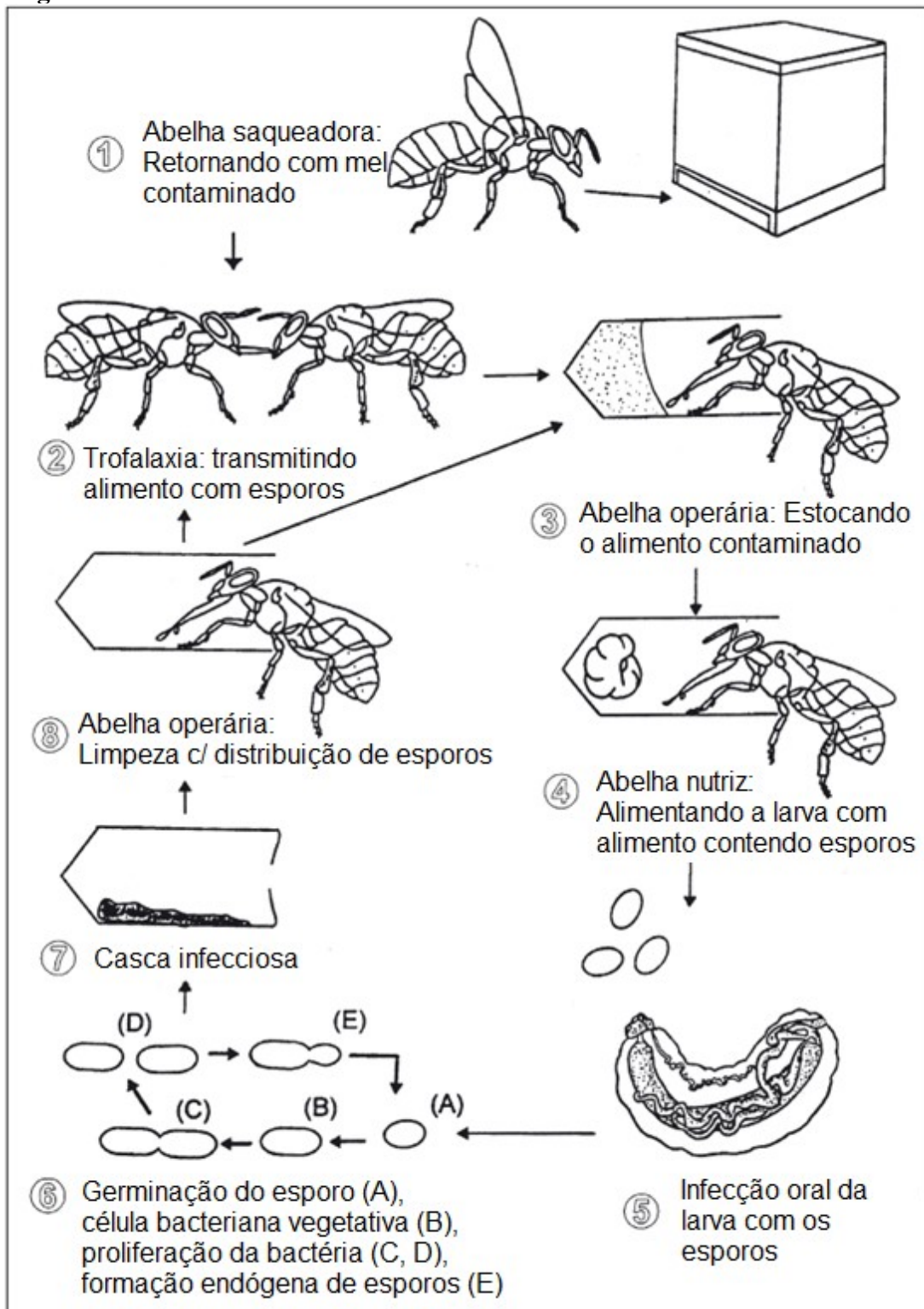
anteriores que os saques são uma via de transmissão de esporos entre as colônias (HORNITZKY, 1998). Um estudo demonstrou de forma convincente que o saque é uma via de transmissão horizontal muito eficiente entre as colônias e que esta via é mais efetiva se a densidade de colônias no local for alta (LINDSTRÖM; KORPELA; FRIES, 2008b).

Abelhas errantes são forrageiras que não retornam para seus próprios ninhos, mas acidentalmente voam para outra colônia. Embora as abelhas guardiãs geralmente detectem e expulsem essas abelhas, as abelhas errantes podem ser capazes de subornar as guardiãs oferecendo mel e eventualmente conseguindo entrar nas colônias. A ocorrência dessas abelhas errantes é mais frequente quando a densidade das colônias é maior (JAY, 1965; GOODWIN; PERRY; HOUTEN, 1994; PFEIFFER; CRAILSHEIM, 1998).

Além destas vias “naturais” de transmissão horizontal entre colônias, existem outras vias artificiais introduzidas pelo apicultor. É comum no manejo apícola realizar a troca entre colônias de materiais da colmeia como mel ou células de cria, reutilizar materiais da colmeia antiga quando se prepara uma nova caixa e juntar colônias fracas para formar uma mais forte. Se estes materiais da colmeia estiverem contaminados com esporos de *Paenibacillus larvae* e/ou os produtos das abelhas estiverem contaminados com esporos ou infectados, isso irá caracterizar uma outra forma de transmissão horizontal de CPA, o que não ocorreria em colônias silvestres em condições naturais (GENERSCH, 2008).

Enquanto que a possibilidade de transmissão de *Paenibacillus larvae* por via vertical dentro da colônia possa ser descartada, a transmissão de esporos de CPA entre as colônias é possível. Algumas colônias infectadas por *Paenibacillus larvae* nunca desenvolvem sinais clínicos da doença que sejam visíveis ao apicultor, sendo que elas sobrevivem e se reproduzem mesmo infectadas (HANSEN; BRØDSGAARD, 1999).

Figura 2 - O ciclo de vida e transmissão do *Paenibacillus larvae larvae* na colmeia



Fonte: Adaptado de Hansen e Brødsgaard (1999).

2.3 PATOGENIA

Originalmente se pensava que o mecanismo patogênico da CPA se dava através do crescimento do *Paenibacillus larvae* na cavidade do órgão da larva da abelha (RITTER; WOERNLE, 1994). A versão aceita era que a bactéria germinava preferencialmente em ambas as extremidades do intestino médio das larvas de abelhas, logo após entrar no intestino da larva, movendo-se através do epitélio intestinal por fagocitose (DAVIDSON, 1973) para a hemocele, presumidamente sendo o primeiro lugar da proliferação bacteriana (BAILEY; BALL, 1991).

No entanto, um estudo usando Hibridação Fluorescente *In Situ* - FISH e uma sonda específica para *Paenibacillus larvae* 16S rRNA demonstrou que os esporos de *Paenibacillus larvae* germinavam em qualquer lugar do intestino médio da larva e a forma vegetativa da *Paenibacillus larvae* colonizava essa região, onde elas proliferavam massivamente vivendo como comensais que se nutriam do alimento que as larvas ingeriam. Eventualmente, o intestino da larva conterá nada além destas bactérias patogênicas. É quando então a bactéria penetrava no epitélio intestinal e “explodia” para fora do intestino na cavidade do órgão, matando assim a larva (YUE *et al.*, 2008).

Em contraste com os estudos anteriores que sugeriam que a penetração da *Paenibacillus larvae* no epitélio intestinal ocorria por fagocitose (DAVIDSON, 1973; GREGORC; BOWEN, 1998), as análises FISH revelaram que a *Paenibacillus larvae* utilizava em vez disso, a rota paracelular para cruzar o epitélio intestinal e entrar na hemocele (YUE *et al.*, 2008).

No passado, alguns trabalhos descreveram que a *Paenibacillus larvae* secreta proteases extracelulares altamente ativas durante o processo de infecção (HOLST, 1946; HOLST; STURTEVANT, 1940; DANCER; CHANTAWANNAKUL, 1997). Entretanto, a função destas proteases permanece desconhecida (CHANTAWANNAKUL; DANCER, 2001). Os dados apresentados por Yue *et al.* (2008) indicam que pelo menos algumas destas proteases poderiam ser responsáveis pela ruptura da integridade da barreira epitelial, degradando as proteínas que formavam a estrutura de junção célula-célula, assim permitindo que a *Paenibacillus larvae* invadisse a hemocele e matasse a larva.

Depois que a larva infectada morre de CPA, a bactéria continua seu trabalho destrutivo degradando o remanescente da larva em um colóide amarronzado e semi-fluido (estágio viscoso). Posteriormente os tecidos secam em uma casca que se adere firmemente na parede interna da célula de cria. Estas cascas possuem milhões de esporos e são altamente

infeciosas, contribuindo para a transmissão da doença na colônia e entre as colônias (STURTEVANT, 1932; BAILEY; BALL, 1991; GREGORC; BOWEN, 1998; LINDSTRÖM; KORPELA; FRIES, 2008a).

2.4 SINAIS CLÍNICOS

Nas colmeias com sinais clínicos de CPA, as crias são normalmente encontradas mortas nos estágios finais de larva e pupa, depois que as células de cria são operculadas. O opérculo pode estar afundado e escurecido nestes casos (Figura 3). Estes opérculos são muitas vezes perfurados pelas abelhas que tentam fazer a limpeza destas células. Os quadros de cria em uma colônia afetada têm a aparência de um pimenteiro, com as crias mortas nas células desoperculadas (WHITE, 1920). O padrão das crias também é bastante disperso devido a remoção das células infectadas (ROTHENBUHLER, 1967).

Larvas e pupas mortas pela CPA tornam-se marrons e liquefeitas, que quando espetadas por um palito de fósforo, formam uma linha viscosa que se estica e retorna a posição, se puxada para muito longe (teste do palito). Estas crias mortas tem um odor desagradável e logo secam, formando cascas (HANSEN; BRØDSGAARD, 1999).

Figura 3 - Linha viscosa que se forma ao espetar com um palito (ao fundo, as crias desoperculadas, em forma de pimenteiro)



Fonte: Western Australia (2019).

2.5 DIAGNÓSTICO

Os sinais clínicos de CPA podem ser diagnosticados no campo, por apicultores experientes ou pessoal treinado. Para um diagnóstico preciso e confirmatório, entretanto, técnicas laboratoriais devem ser utilizadas (HANSEN; BRØDSGAARD, 1999). Além dos sinais distintos, a confirmação laboratorial é necessária em muitos países nos quais a CPA é uma doença de notificação obrigatória, como é o caso do Brasil.

Para o diagnóstico em laboratório, tanto a forma vegetativa da *Paenibacillus larvae* é diretamente cultivada de restos larvais quanto os esporos são induzidos a germinar e então cultivados. O diagnóstico é baseado em meios complexos que permitem o cultivo, germinação e esporulação do *Paenibacillus larvae*. Há diversos protocolos de diagnóstico para detecção dos esporos em amostras de abelhas e mel, todas incluindo aquecimento como pré-tratamento das amostras para eliminar contaminantes e estimular a germinação do *Paenibacillus larvae* (HANSEN, 1984; SHIMANUKI; KNOX, 1988; HORNITZKY; KARLOVSKIS, 1989).

A recente reclassificação das espécies de *Paenibacillus larvae* (GENERSCH *et al.*, 2006) finalmente simplificaram o diagnóstico de CPA em laboratório, abrindo possibilidades de usar protocolos de PCR já descritos (GENERSCH *et al.*, 2006) para uma identificação rápida e específica da bactéria.

2.6 RESISTÊNCIA DA BACTÉRIA

A esporulação é o processo pelo qual alguns gêneros de bactérias formam esporos quando estão em condições críticas para sua sobrevivência. Os esporos de *Paenibacillus larvae* podem sobreviver no alimento larval, no solo e nas cascas (os remanescentes secos de larvas mortas) por muitos anos (GENERSCH, 2008). O tempo de sobrevivência mais longo conduzido mostrou que os esporos são capazes de germinar depois de 35 anos nas cascas (HASEMAN, 1961). No entanto, presume-se que os esporos possam sobreviver por muito mais tempo.

Paenibacillus larvae é bastante resistente ao calor (Quadro 2). É possível que diferentes cepas da bactéria tenham uma resistência diferente ao tratamento por calor. HANSEN e RASMUSSEN (1990) relataram um estudo no qual cera de abelhas oriunda de colônias com sinais clínicos de CPA foram derretidas à vapor em uma planta de processamento de produtos apícolas, o que demonstrou uma leve contaminação depois do tratamento em um dos seis lotes. Além disso, o tratamento pelo fogo, utilizando um maçarico,

não foi capaz de destruir todos os esporos das estruturas de madeira da colmeia.

Quadro 2 - Relação entre temperatura e tempo necessário para destruir *Paenibacillus larvae larvae* em diferentes meios:

Meio de Cultura	Estágio	Temperatura (°C)	Tempo (min)
Caldo	Cél. Vegetativas	60	15
Água	Esporos	100	30
Cera	Esporos	121	30
Mel	Esporos	100	160

Fonte: Hansen e Brødsgaard (1999).

2.7 PREVENÇÃO E CONTROLE

A substituição regular dos favos de mel e quadros de cria são geralmente recomendados para prevenir focos de CPA, não devendo ser utilizados os mesmos por mais de três anos (SMIRNOV, 1982). Em alguns países, como nos escandinavos, é prática comum não utilizar estes materiais por mais de um ano.

Em geral, é também indicado que as colônias sejam colocadas em locais com abundância de pólen e néctar, que seja feita a substituição de rainhas por linhagens resistentes, que materiais utilizados no manejo sejam sempre limpos e que as abelhas sejam alimentadas durante a época que não há pasto apícola. Como os esporos de CPA podem ser encontrados algumas vezes em méis de colônias sem sinais clínicos, é aconselhável alimentar as colmeias apenas com méis que foram testados laboratorialmente e estejam livres de esporos. Da mesma forma, deve-se coletar pólen para uso futuro, de colônias que foram examinadas e encontram-se livres da infecção (HANSEN; BRØDSGAARD, 1999).

Em muitos casos, os esporos são encontrados no mel um ano antes de qualquer sinal clínico de CPA aparecer (HANSEN; RASMUSSEN, 1986). Assim, examinar o mel para a detectar a presença de *Paenibacillus larvae* pode ter um papel fundamental na prevenção da CPA.

O diagnóstico do mel já faz parte do programa nacional de CPA em países como Dinamarca, Austrália, Finlândia e Alemanha (RITTER; WOERNLE, 1994). No Brasil há apenas o Programa Nacional de Sanidade Apícola aprovado, porém não há ainda nenhum procedimento definido, ficando a critério de cada estado legislar a respeito desta cadeia, fato este que ainda não tem ocorrido.

2.7.1 Métodos de Controle

Alguns métodos e procedimentos para controlar a doença vêm sendo utilizado aos longos dos anos, porém nenhum deles é totalmente eficiente quando utilizados isoladamente, sem adequá-los a outros métodos de diagnóstico e prevenção.

2.7.1.1 Destruição das colmeias

Este método de controle consiste em queimar as colônias doentes e todo o equipamento e material apícola. Ele é efetivo para destruir os esporos e é utilizado em muitos países. No entanto, as outras colônias do apiário que não possuem sinais clínicos também estarão provavelmente infectadas e os esporos não serão necessariamente erradicados. Queimar as colônias pode ser inaceitável para alguns produtores porque a destruição das abelhas e equipamentos tem um custo muito elevado (RATNIEKS, 1992). Além disso, a destruição é uma possibilidade de controle apenas em regiões onde a incidência de CPA é baixa.

2.7.1.2 Método de sacudimento

É um método antigo, ainda em uso para o tratamento de CPA, originalmente proposto por Schirach em 1792 (WHITE, 1906). Este método consiste em transferir as abelhas adultas, sacudindo-as para uma colmeia livre da doença, destruindo os quadros de cria e melgueiras da colônia infectada. O mel contaminado no estômago das abelhas será consumido enquanto elas constroem o novo ninho e estas abelhas geralmente não serão uma fonte de infecção.

Em alguns casos, os esporos foram encontrados no mel extraído de colônias que foram tratadas pelo método de sacudimento, depois de dois meses até um ano do tratamento (HANSEN; RASMUSSEN, 1986).

Assim, esse método não erradica os esporos de *Paenibacillus larvae*, mas o número é minimizado e a doença pode ser controlada. No entanto, este procedimento deve ser combinado com a limpeza da colmeia e com o derretimento da cera das colônias doentes. Uma grande vantagem desse método é que além de poupar as colônias, não há resíduo de drogas no mel, nas abelhas e na cera após o tratamento. A desvantagem é que exige um manejo intenso (HANSEN; BRØDSGAARD, 1999).

2.7.1.3 Quimioterapia

Knox, Shimanuki e Caron (1976) demonstraram que o método de sacudimento seguido de uma aplicação única de cloridrato de oxitetraciclina ou sem a aplicação de oxitetraciclina possuem a mesma eficiência na eliminação da CPA. Consequentemente, o tratamento com a droga não é necessário.

2.7.1.4 Descontaminação

É uma prática comum em muitos países descontaminar as caixas e outros materiais apícolas feitos de madeira com fogo (maçarico). Antes de chamuscar, o equipamento deve ser raspado. Este método não destrói todos os esporos (HANSEN; RASMUSSEN, 1990).

Segundo Hansen e Brødsgaard (1999), a utilização de Virkon S ®, que é um desinfetante biodegradável, tem sido utilizado como alternativa ao fogo e tem uma eficácia de 80% na eliminação dos esporos (Figura 4).

Figura 4 - Descontaminação de material apícola com Virkon S ®



Fonte: Hansen e Brødsgaard (1999).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Apresentar o relato de caso do único foco confirmado de Cria Pútrida Americana no Brasil em apiários do Paraná, demonstrando as ações do Serviço Veterinário Oficial (SVO), na época chamado DEFIS, hoje ADAPAR, em conjunto com o MAPA, no controle e erradicação do foco de 2006 de CPA, desde a notificação inicial à Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) até o encerramento do caso em 2007.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Dar subsídio à ADAPAR para a elaboração de um plano de contingência atualizado, que se adeque a realidade da doença e que auxilie o serviço oficial no controle de erradicação desta enfermidade em caso de uma nova ocorrência, permitindo diagnóstico rápido, terapêutica e profilaxia adequadas e eficazes frente a um novo foco.

4 METODOLOGIA

Foi realizado durante o evento sanitário de 2006 o exame clínico e colheita de 113 apiários. Estes apiários corresponderam a 1245 colmeias inspecionadas. Destas, por meio de laudos laboratoriais, 1176 colmeias foram consideradas “ausentes” quanto a presença de esporos de *Paenibacillus larvae* no mel e 69 consideradas “presentes”.

Para o estudo de caso, foi realizada uma análise documental de todos os registros referentes ao foco de Cria Pútrida Americana no Paraná em 2006. Os dados foram fornecidos pela Agência de Defesa Agropecuária do Paraná (ADAPAR). Foram analisados os formulários de investigação inicial (*Form-in*) e os subsequentes formulários de investigação complementar (*Form-com*) lavrados durante o foco e perifoco da CPA, no período de outubro de 2006 a novembro de 2007, contemplando 107 formulários. Além destes, foram analisados os laudos laboratoriais de todas as colheitas realizadas durante as investigações e as atas das reuniões entre os serviços veterinários estadual e federal que conduziram às ações durante o evento sanitário. Após uma análise diária de duas horas por um período de aproximadamente um mês, foi possível analisar os dados e chegar a um resultado que permitiu elaborar o estudo detalhado e cronológico da ocorrência única de CPA no Brasil e às ações do SVO no controle e erradicação da enfermidade.

5 DESCRIÇÃO DA OCORRÊNCIA DE CPA NO PARANÁ

5.1 HISTÓRICO DA CPA NO BRASIL

Em 2001 foram isolados esporos de *Paenibacillus larvae* em um apiário da região de Candelária no Rio Grande do Sul, sem ocorrência da doença. Na ocasião, foi identificada a contaminação por méis importados contaminados e que foram utilizados para a alimentação das abelhas. O Brasil informou à OIE a presença do agente patogênico, porém sem a presença de sinais clínicos. A esse episódio, seguiu-se a realização de monitoramento de apiários do Rio Grande do Sul, que demonstrou a ausência da ocorrência de novas contaminações.

5.2 COMUNICAÇÃO DA SUSPEITA AO (SVO)

A origem da investigação iniciou-se a partir de um apicultor, que enviou material (favos de mel) para diagnóstico da suspeita ao Laboratório de Diagnose Vegetal da UFRGS, laboratório de referência na área de apicultura. O proprietário já havia participado de cursos com professores da universidade, portanto este foi o primeiro caminho que o mesmo procurou para tentar o diagnóstico da suspeita da enfermidade em suas colmeias, localizadas na região metropolitana de Curitiba. Uma vez tendo o diagnóstico de Cria Pútrida Americana confirmado, o professor da UFRGS fez contato com o produtor, orientando-o quanto aos procedimentos.

Em reunião do Comitê Científico Consultivo em Sanidade Apícola (CCCSA) realizada no período de 23 a 26 de outubro de 2006 em Porto Alegre, o apicultor notificou oficialmente a suspeita de Cria Pútrida Americana em um apiário da região de Curitiba ao Departamento de Saúde Animal do MAPA, ambos estando presentes nesta reunião.

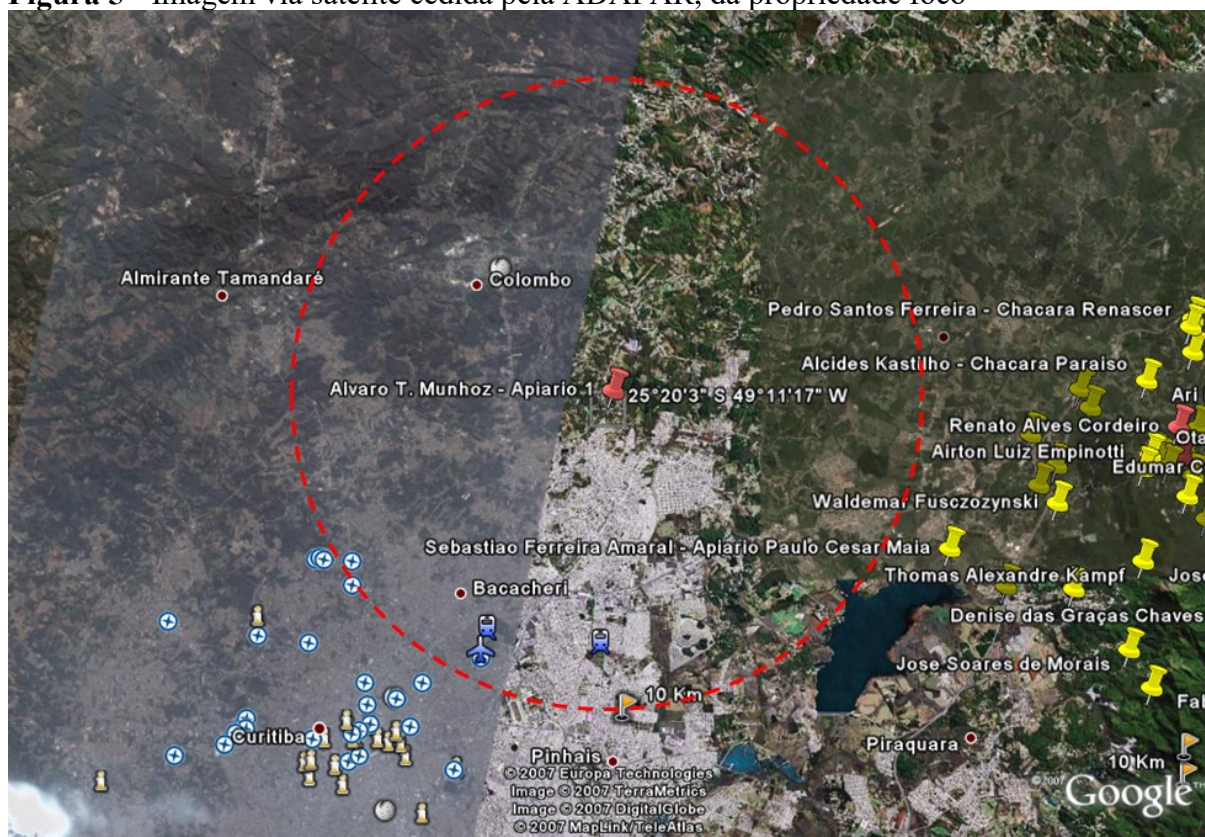
5.3 CARACTERIZAÇÃO DA PROPRIEDADE FOCO

O apiário onde ocorreu suspeita inicial, chamado de apiário 1, possuía aproximadamente 35 colmeias, estava localizado em Quatro Barras, região metropolitana de Curitiba, conforme pode ser visualizado na Figura 5 e situava-se a 70 km da fronteira com Santa Catarina, a 55 km da fronteira com o estado de São Paulo, a 500 km da fronteira com a Argentina e a 550km da fronteira com o Paraguai. Era um apiário de triagem, que recebia caixas iscas localizadas em um raio de até 30 km de Curitiba.

O proprietário possuía cerca de 60 apiários ao todo, com aproximadamente 2000 colmeias em diversas propriedades da região de Curitiba, em um raio de 150 quilômetros. Havia também um entreposto de mel, de propriedade deste mesmo apicultor, que recebe toda a sua produção, bem como de outros produtores, inclusive de outros estados.

As amostras de mel e de crias infectadas deste apiário 1 foram colhidas pelo próprio apicultor, portanto houve a necessidade de colheita oficial com envio à um laboratório (LANAGRO) do MAPA, para confirmar a abertura do foco ou descartar a suspeita.

Figura 5 - Imagem via satélite cedida pela ADAPAR, da propriedade foco



Fonte: Google Earth (2007).

5.4 AÇÕES DO SERVIÇO OFICIAL

Tão logo o SVO teve conhecimento da suspeita, elaborou em conjunto com a CCCSA um plano emergencial para atuação neste episódio, inicialmente procedendo com o deslocamento ao apiário da suspeita inicial para proceder com a colheita oficial de amostras e remessa ao LANAGRO/RS, bem como iniciar a investigação epidemiológica, que se deu entre os dias 30 e 31/10/2006.

Foram avaliados sanitariamente o apiário de triagem (chamado de Apiário 1),

localizado em Quatro Barras, que recebeu as colônias das caixas iscas e um outro apiário de produção (Apiário 2), localizado em Colombo, que recebeu colônias deste apiário de triagem. Do apiário 1 (Quatro Barras), foram colhidas 33 amostras de mel (1 amostra por colmeia) e partes de favos com cria de 5 colmeias que apresentavam sinais clínicos da doença ou doença similar para diagnóstico diferencial. Do apiário 2 (Colombo) foi realizado o exame visual (sem sinais clínicos) e colheita de 13 amostras de mel com favos. Estes foram remetidos ao LANAGRO/RS, bem como amostras de méis e pólen do entreposto do mesmo produtor, que se localiza em Curitiba. O apiário 1, em consequência de ser o único a apresentar sinais clínicos, foi interditado pelo SVO, sendo impedida a movimentação de abelhas e seus produtos, até que se concluísse a investigação.


5.4.1 Confirmação do Foco

No dia 23 de novembro de 2006, o Laboratório Nacional Agropecuário – (LANAGRO-RS), do MAPA, localizado na cidade de Porto Alegre, realizou o isolamento de *Paenobacillus larvae*, agente etiológico da CPA, em amostras de mel em favo, colhidas no apiário 1 localizado no município de Quatro Barras, onde foram observadas colmeias com sinais clínicos sugestivos da doença.

Confirmada a suspeita, a OIE foi notificada, conforme o relatório do evento observado na Figura 6 (por ser tratar de doença exótica, a OIE deveria ter sido notificada na ocorrência do caso suspeito, porém foi aguardada a confirmação para a comunicação oficial).

Assim, o apiário 1, chamado agora de foco índice, que teve 33 colmeias examinadas, confirmou a positividade em 24 delas. O apiário 2 foi considerado o foco primário do foco índice, visto que foram remetidas colmeias deste apiário para o apiário 1 em Quatro Barras.

Figura 6 - Notificação oficial da ocorrência de CPA no Brasil, publicada pela OIE

 American foulbrood of honey bees, Brazil		Print	Close			
Information received on 25/11/2006 from Dr Jamil Gomes de Souza, Director, Departamento de Salud Animal , Ministério da Agricultura, Pecuaria e Abastecimento, Brasilia DF, Brazil						
Summary						
Report type	Immediate notification					
Date of start of the event	23/10/2006					
Date of confirmation of the event	23/11/2006					
Report date	24/11/2006					
Date submitted to OIE	25/11/2006					
Date event resolved	11/12/2006					
Reason for notification	First occurrence of a listed disease					
Manifestation of disease	Clinical disease					
Causal agent	Paenibacillus larvae					
Nature of diagnosis	Clinical, Laboratory (advanced)					
This event pertains to	the whole country					
Related reports	Immediate notification (24/11/2006) Follow-up report No. 1 (11/12/2006)					
New outbreaks (1)						
Outbreak 1	Quatro Barras, Parana					
Date of start of the outbreak	23/10/2006					
Outbreak status	Resolved (11/12/2006)					
Epidemiological unit	Apiary					
Affected animals	Species	Susceptible	Cases	Deaths	Killed and disposed of	Slaughtered
	Bees (hives)	33	24	0	33	0
Affected population	production apiary					
Summary of outbreaks	Total outbreaks: 1					
Total animals affected	Species	Susceptible	Cases	Deaths	Killed and disposed of	Slaughtered
	Bees (hives)	33	24	0	33	0
Outbreak statistics	Species	Apparent morbidity rate	Apparent mortality rate	Apparent case fatality rate	Proportion susceptible animals lost*	
	Bees (hives)	72.73%	0.00%	0.00%	100.00%	

Fonte: World Organisation for Animal Health (2019).

5.4.2 Zona de Vigilância

No dia 24 de novembro, foi deflagrada pelo SVO a zona de vigilância, considerando 10 km de raio da propriedade foco (Figura 5). As ações foram divididas em 2 regiões:

Em um raio de 5 km do apiário 1, foi feita a localização, a demarcação georreferencial, a identificação individual e a inspeção clínica das colmeias, com colheita de

material de todos os apiários e qualquer outro tipo de criação, comercial ou não, de abelhas (*Apis mellifera*).

Em um raio de 5 a 10 km, foi realizada a localização, demarcação georreferencial, identificação individual, com colheita de amostras em 20% das colmeias dos apiários (com o mínimo de 5 colmeias).

Como necessidade imediata, foi definido o treinamento de técnicos do SVO através da participação e coordenação de membros especialistas do CCCSA. Ficou determinado também, o seguimento da investigação epidemiológica, com repetição das ações da zona de vigilância, conforme o surgimento de novos casos diagnosticados.

5.4.3 Saneamento do Foco

Em 4 de dezembro foi emitida a Ordem de Matança pelo MAPA, ordenando o sacrifício e destruição das colônias de *Apis mellifera* do apiário 1, localizado em Quatro Barras, bem como a destruição dos quadros, melgueiras, ninhos e demais produtos apícolas existentes no local, seguido de desinfecção dos equipamentos e caixas do apiário.

No dia 11 de dezembro de 2006 as colônias foram destruídas por fogo pelo SVO e o foco deu-se por encerrado, sendo comunicada a OIE as ações de saneamento.

Foi criada uma Comissão de Avaliação, Taxação e Sacrifício para atuar nas ações referentes a este episódio, sendo que o apicultor que teve suas colmeias destruídas foi indenizado, bem como os demais produtores em focos secundários que por estavam relacionados a este evento. Para isso, existe um fundo nacional emergencial indenizatório.

5.4.4 Ações de Perifoco

Durante 2007, ao se fazer as investigações da zona de vigilância, em alguns apiários dentro do raio de 10 km do apiário 1, foram encontrados apiários com sinais clínicos e também diagnosticados como positivos pela presença do agente no mel (focos secundários). Os mesmos foram saneados, com destruição total das colmeias e demais materiais, conforme descrito na ordem de matança do foco índice. A cronologia dos eventos se encontra no Quadro 3.

Quadro 3 - Cronologia dos acontecimentos

Data	Ações
23/10/2006	Notificação da suspeita ao SVO
26/10/2006	MAPA solicita auxílio nos trabalhos de campo ao DEFIS
30/10/2006 - manhã	Investigação no Entreposto da UNIMEL
30/10/2006 - tarde	Investigação, colheita e interdição do Apiário 1
31/10/2006	Investigação e colheita do Apiário 2
01/11/2006	Reuniões técnicas
23/11/2006	Laudo Positivo para CPA – LANAGRO/RS
24/11/2006	Deflagrada zona de vigilância de 10 km a partir do foco
01/12/2006	Ações de investigação no raio de 10km do apiário 1
04/12/2006	Ordem de matança
11/12/2006	Destruição e encerramento do foco
Até mês 11/2007	Ações de perifoco em raio de 10 km

Fonte: o próprio autor

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Repassados todos os trabalhos desenvolvidos na investigação e saneamento dos focos (foco índice e focos secundários), a área de epidemiologia do DEFIS elaborou naquela ocasião alguns índices epidemiológicos, tomando os dados laboratoriais e de campo. A prevalência de colmeias contaminadas foi de 5,5%. Calculou-se a prevalência de colmeias infectadas no Foco Índice (Apiário 1), onde observou-se o valor de 29,1%, enquanto que a prevalência dos demais apicultores foi de 0,67%. O mesmo cálculo foi feito por apiário. A prevalência de apiários contaminados foi de 12,3%. No foco índice, a prevalência foi de 80% e nos demais apiários foi de 5,8%. Desta forma, concluiu-se que não foi possível determinar o foco de origem (foco primário) do evento sanitário. Embora estes números não sejam o objetivo do trabalho, eles permitiram avaliar a característica do evento, dando base ao SVO para determinar que as contaminações encontradas nas colmeias do apiário 1 eram cruzadas. Provavelmente oriundas do tipo de manejo envolvido, com transporte e troca de melgueiras entre colmeias contaminadas e sem contaminação. Assim, observou-se que não houve uma alta propagação entre o foco índice e os focos secundários, dado ao tempo envolvido entre a eliminação do foco índice logo no início e o achado de novos casos no perifoco no ano seguinte, com prevalência muito baixa.

A importância de se fazer um levantamento das ações realizadas à época do evento serviu para preparar o SVO frente às ocorrências futuras. Isso porque a Cria Pútrida Americana tem causado prejuízos economicamente substanciais no mundo e uma vez estabelecida, o seu controle e erradicação são praticamente impossíveis. Assim, o diagnóstico rápido e precoce é a chave para que seja evitada a propagação do agente.

As consequências da introdução da CPA no Brasil seriam enormes, incluindo a mortalidade de colônias, redução na produção de mel e de outros produtos apícolas, aumento nos custos de produção pela necessidade de manejo sanitário, perdas para os apicultores, maiores custos para o governo nas ações de defesa sanitária, incluindo o treinamento de pessoal e adequações laboratoriais, além da perda de mercado nacional e internacional.

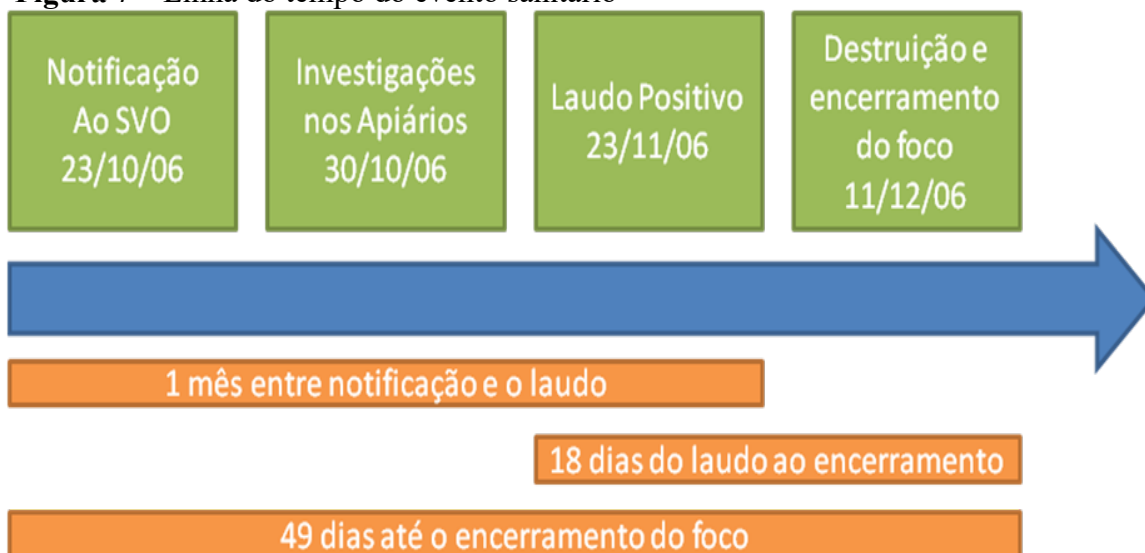
Baseando-se na experiência de outros países, o MAPA estima que a perda anual brasileira seria na ordem de 30 milhões de dólares, sem considerar as grandes perdas na agricultura, que costumam ser muito maiores. Isso porque a mortalidade das abelhas resultaria em efeitos negativos sobre a produção e produtividade agrícola brasileira, causando diminuição da atividade polinizadora das abelhas. Difícil avaliar o valor adicional com o aumento da produção agrícola devido aos efeitos da polinização aqui no Brasil, mas segundo

Robinson, Nowogrodzi e Morse (1989), os pesquisadores dos Estados Unidos, que são pioneiros nestes estudos (MAIA *et al.* 2010), desenvolveram metodologias para estimar o valor econômico das abelhas para cada cultura. Segundo Morse *et al.* (2000), a agricultura nos Estados Unidos foi beneficiada somente pelas abelhas *Apis mellifera* em 9,3 bilhões de dólares em 1989 (ROBINSON; NOWOGRODZI; MORSE, 1989) e 14,6 bilhões em 2000, ou seja, um aumento de 36% em dez anos. Por esta razão, muitos países têm investido em programas de sanidade apícola, alguns até possuem programas específicos para Cria Pútrida Americana.

O Brasil é um país agrícola e as abelhas são essenciais para manter e aumentar os níveis de produção, produtividade e qualidade dos grãos, cereais, sementes, verduras e frutas produzidos aqui. É essencial que o serviço oficial esteja preparado para agir e evitar a introdução e propagação de uma doença como a Cria Pútrida Americana.

Ao realizar a análise documental das ações frente ao evento sanitário ocorrido em 2006, muitas questões chamaram a atenção: o tempo entre a notificação feita pelo apicultor ao SVO e o resultado laboratorial foi de um mês (Figura 7).

Figura 7 – Linha do tempo do evento sanitário



Fonte: o próprio autor

Um tempo demasiadamente longo e que poderia ser minimizado com outras técnicas laboratoriais mais rápidas, caso estas fossem previstas e aprovadas em uma legislação específica. Essa inovação é essencial dentro da saúde animal. O tempo excessivo poderia ter comprometido o saneamento do foco, facilitando a propagação do agente e impedindo o controle da enfermidade. Outra demora que poderia ter comprometido os resultados foi o

tempo entre o resultado oficial e o encerramento do foco pela destruição das colmeias por fogo. Após o SVO ter recebido o laudo do laboratório, mais de 2 semanas se passaram. Um plano emergencial previamente definido permitiria que estas ações fossem realizadas com mais praticidade e principalmente, agilidade, chaves para sucesso da ação de controle e erradicação. Não havia um plano de contingência preparado para atuar em um evento sanitário de abelhas. Com isso, foi necessário realizar inúmeras reuniões entre o SVO Federal e o Estadual, muitas delas sem um consenso, para se elaborar um plano emergencial em conjunto com o CCCSA para atuar no foco descrito. Embora o atendimento ao evento tenha sido bem-sucedido e a doença erradicada, houve dificuldade em se estabelecer uma ação rápida.

Por não haver um plano descrito, também não havia metodologias definidas para a investigação, para a colheita e nem métodos definidos para destruição. Mais que isso, ficou claro durante a revisão documental que não se tinha um cadastro atualizado dos apicultores, o que dificultou muito a criação do cerco e as ações de perifoco. É sabido que o cadastro é a base da defesa sanitária animal e sem ela é quase impossível se ter um plano de controle e erradicação para qualquer enfermidade. Em abelhas, devido à característica da atividade, onde muitos apicultores desenvolvem um manejo migratório, levando suas caixas para diversas localidades, esse controle é ainda mais importante.

Sem ter um plano descrito, outros problemas apareceram. Não havia uma padronização para o descarte dos produtos destruídos, modelo e profundidade de valas, impactos ambientais dessas ações e não havia uma quantidade adequada de equipamentos de proteção individual para atuar em um foco dessa magnitude. Pontos estes que poderiam ser evitados caso já houvesse um plano descrito para atuar em eventos sanitários.

É preciso citar também, o desconhecimento por parte dos apicultores. Ao se depararem com um caso como esse, a grande maioria não está tecnicamente preparada para identificar a suspeita. Este caso de 2006 só aconteceu porque o apicultor era um profissional especializado com cursos na área de sanidade apícola. Assim, mais que um plano de contingência claro e preciso para CPA, é preciso desenvolver um programa que contemple ações que vão desde a educação sanitária para os produtores rurais, incluindo melhorias na base cadastral, georreferenciamento, vigilância epidemiológica, controle de trânsito e notificação com intervenção imediata no caso de suspeita de doença de notificação obrigatória. Embora um plano nacional tenha sido aprovado em 2008, este não foi descrito e a continuidade fica a cargo de cada Estado. Esta é a principal lição obtida neste levantamento.

Assim, ao analisar os sucessos e dificuldades deste evento sanitário inédito ocorrido

no Paraná em 2006, este trabalho tem o objetivo de dar subsídios à ADAPAR na elaboração um plano de contingência que cubra os entraves apontados no foco da época, e ajude a desenvolver um programa sólido para a sanidade das abelhas no Estado do Paraná.

Como proposta sanitária, considerando a possibilidade de um novo foco da doença no Paraná e a necessidade do SVO estar apto frente a este evento, com base na experiência obtida por este estudo de caso e pela revisão bibliográfica da doença, está a elaboração de uma legislação estadual em sanidade das abelhas. Esta legislação contemplaria todas às principais doenças de notificação oficial, dando especial atenção a CPA, descrevendo quais as ações que devem ser feitas desde o momento da suspeita e contemplando ainda, um plano de ações emergenciais para controle e erradicação do agente quando ocorrer a confirmação da suspeita. Neste documento, seriam previstos outros os métodos de controle e erradicação além da destruição por fogo, como por exemplo, o método do sacudimento. Para uma maior agilidade no diagnóstico, incluir como técnica oficial de laboratório o PCR, o que diminuiria muito o tempo para o resultado final, quando comparado com o cultivo bacteriano.

Não há até a presente data, nenhuma legislação direcionada à sanidade das abelhas e esta proposta teria uma contribuição imprescindível para o reconhecimento da importância da cadeia nos programas de saúde animal.

7 CONCLUSÕES

As ações para o controle e saneamento do foco de CPA foram sido bem-sucedidas, porém careceu ao SVO um plano de ação emergencial pré-elaborado. Chamou a atenção o longo tempo decorrido entre a notificação, o resultado oficial e o saneamento, que poderia ser minimizado se houvesse um método oficial já aprovado. Ao fazer a revisão bibliográfica, observou-se que há outros métodos de controle que podem ser utilizados no combate à enfermidade, bem como novos métodos de diagnóstico, que também poderiam ser descritos e aplicados em um plano de controle oficial, ambos diminuindo muito o tempo entre a primeira notificação e o encerramento do foco, que é a chave para o sucesso no combate à qualquer doença de alta disseminação, como o caso da CPA.

REFERÊNCIAS

- ALIPPI, A. M. A comparison of laboratory techniques for the detection of significant bacteria of the honey bee, *Apis mellifera*, in Argentina. **Journal of Apicultural Research**, London, v. 30, n. 2, p. 75–80, 1991.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS EXPORTADORES DE MEL - ABEMEL. Disponível em: <http://brazilltsbee.com.br/a-abemel.aspx>. Acesso em: 9 jan. 2019.
- BAILEY, L.; BALL, B. V. **Honey bee pathology**. London: Academic Press, 1991.
- CHANTAWANNAKUL, P.; DANCER, B. N. American foulbrood in honey bees. **Bee World**, Bucks, GB, v. 82, n. 4, p. 168–180, 2001.
- DANCER, B. N.; CHANTAWANNAKUL, P. The proteases of american foulbrood scales. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, US, v. 70, n. 2, p. 79–87, 1997.
- DAVIDSON, E. W. Ultrastructure of American foulbrood disease pathogenesis in larvae of the worker honey bee, *Apis mellifera*. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, US, v. 21, n. 1, p. 53–61, 1973.
- FRIES, I.; CAMAZINE, S. Implications of horizontal and vertical pathogen transmission for honey bee epidemiology. **Apidologie**, Versailles, FR, v. 32, n. 3, p. 199–214, 2001.
- FRIES, I.; LINDSTROM, A.; KORPELA, S. Vertical transmission of American foulbrood (*Paenibacillus larvae*) in honey bees (*Apis mellifera*). **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, NL, v. 114, n. 3-4, p. 269–274, 2006.
- GENERSCH, E. *Paenibacillus larvae* and American foulbrood: long since known and still surprising. **Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit**, Berlin, v. 3, n. 4, p. 429–434, 2008.
- GENERSCH, E. *et al.* Reclassification of *Paenibacillus larvae* subsp. *pulvifaciens* and *Paenibacillus larvae* subspecies *Paenibacillus larvae* as *Paenibacillus larvae* without subspecies differentiation. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, Reading, GB, v. 56, n. 3, p. 501–511, Jan. 2006.
- GOODWIN, R. M.; PERRY, J. H.; HOUTEN, A. T. The effect of drifting honey bees on the spread of American foulbrood infections. **Journal of Apicultural Research**, London, v. 33, n. 4, p. 209–212, 1994.
- GREGORC, A.; BOWEN, I. D. Histopathological and histochemical changes in honeybee larvae (*Apis mellifera* L.) after infection with *Bacillus larvae*, the causative agent of American foulbrood disease. **Cell Biology International**, London, GB, v. 22, n. 2, p. 137-144, 1998.
- HANSEN, H. Methods for determining the presence of the foulbrood bacterium *Bacillus larvae* in honey. **Tidsskrift for Planteavl**, Denmark, v. 88, p. 325–328, 1984.
- HANSEN, H.; BRØDSGAARD, C. J. American foulbrood: a review of its biology, diagnosis and control. **Bee World**, Bucks, GB, v. 80, n. 1, p. 5–23, 1999.

HANSEN, H.; RASMUSSEN, B. The sensitiveness of the foulbrood bacterium *Bacillus* larvae to heat treatment. *In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON RECENT RESEARCH ON BEE PATHOLOGY*, 1990, Ghent, Belgium. **Proceedings** [...] Ghent: Apimondia, 1990. p. 146–148.

HASEMAN, L. How long can spores of American foulbrood live? **American Bee Journal**, Hamilton, US, v. 101, p. 298–299, 1961.

HOLST, E. C. A simple field test for American foulbrood. **American Bee Journal**, Hamilton, US, v. 86, n. 1, p. 14–34, 1946.

HOLST, E. C.; STURTEVANT, A. P. Relation of proteolytic enzymes to phase of life cycle of *Bacillus* larvae, and two new culture media for this organism. **Journal of Bacteriology**, Washington, US, v. 40, n. 5, p. 723–731, 1940.

HORNITZKY, M. A. The spread of *Paenibacillus* larvae subs *Paenibacillus* larvae infections in an apiary. **Journal of Apicultural Research**, London, v. 37, p. 261 – 265, 1998.

HORNITZKY, M. A.; KARLOVSKIS, S. A culture technique for the detection of *Bacillus* larvae in honeybees. **Journal of Apicultural Research**, London, v. 28, n. 2, p. 118–120, 1989.

IBGE. Agricultura, pecuária e outros. **Produção da pecuária municipal (PPM)**. 2015. Disponível em: <https://www.ibge.gov.br/estatisticas-novoportal/economicas/agricultura-e-pecuaria/>. Acesso em: 9 jan. 2019.

JAY, S. C. Drifting of honeybees in commercial apiaries 1. Effect of various environmental factors. **Journal of Apicultural Research**, London, v. 4, n. 3, p. 167–175, 1965.

KNOX, D. A.; SHIMANUKI, H.; CARON, D. M. Ethylene oxide plus oxytetracycline for the control of American foulbrood in honey bees 123. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, US, v. 69, n. 5, p. 606–608, Jan. 1976.

LINDSTRÖM, A.; KORPELA, S.; FRIES, I. Horizontal transmission of *Paenibacillus* larvae spores between honey bee (*Apis mellifera*) colonies through robbing. **Apidologie**, Versailles, FR, v. 39, n. 5, p. 515–522, 2008a.

LINDSTRÖM, A.; KORPELA, S.; FRIES, I. The distribution of *Paenibacillus* larvae spores in adult bees and honey and larval mortality, following the addition of American foulbrood diseased brood or spore-contaminated honey in honey bee (*Apis mellifera*) colonies. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, US, v. 99, n. 1, p. 82–86, 2008b.

MAIA, F; LOURENCO, D; TOLEDO, V. Aspectos econômicos e sustentáveis da polinização por abelhas. **Sistemas de Produção Agropecuária**. 1 ed. Dois Vizinhos: Editora UTFPR. 2010.

MORSE, Roger A.; CALDERONE, Nicholas W. The value of honey bees as pollinators of U.S. crops in 2000. **Bee Culture**, v.132, n.3, p.1-15, 2000.

PFEIFFER, K. J.; CRAILSHEIM, K. Drifting of honeybees. **Insectes Sociaux**, Basel, CH, v. 45, n. 2, p. 151–167, Jan. 1998.

- RATNIEKS, F. L. W. American foulbrood: the spread and control of an important disease of the honey bee. **Bee World**, Bucks, GB, v. 73, n. 4, p. 177–191, 1992.
- RITTER, W.; WOERNLE, H. **Bienenkrankheiten**. Stuttgart, V. E. Ulmer, 1994.
- ROBINSON, W. S.; NOWOGRODZI, R.; MORSE, R. A. The value of honey bees as pollinators of U.S. crops: part 1. **American Bee Journal**, Hamilton, US, v. 129, p. 411–423, 1989.
- ROTHENBUHLER, W. C. American foulbrood and bee biology. *In*: INTERNATIONAL APICUTURAL CONGRESS OF APIMONDIA, 21., 1967, Maryland, US. **Proceedings** [...] Bucharest, Romania: Apimondia Publishing House, 1967. p. 179–188.
- SHIMANUKI, H.; KNOX, D. A. Improved method for the detection of *Bacillus* larvae spores in honey. **American Bee Journal**, Hamilton, US, v. 12, p. 353–354, 1988.
- SMIRNOV, A. M. Study of microbial contamination of hives and combs, and methods of disinfection. **Apiacta: An International Technical Magazine of Apicultural and Economic Information**, Roma, IT, v. 17, p. 100–104, 119, 1982.
- STURTEVANT, A. P. Relation of commercial honey to the spread of American foulbrood. **Journal of Agricultural Research**, Washington, US, v. 45, p. 257 – 285, 1932.
- VERSALOVIC, J. *et al.* Genomic fingerprinting of bacteria using repetitive sequence based polymerase chain reaction. **Methods in Molecular and Cellular Biology**, New York, US, v. 5, p. 25 – 40, 1994.
- WESTERN AUSTRALIA. Department of Primary Industries and Regional Development (DPIRD). Agriculture and Food. Disponível em: <https://www.agric.wa.gov.au/>. Acesso em: 8 fev. 2019.
- WHITE, G. F. American foulbrood. **US Department of Agriculture, Bureau of Entomology Bulletin**, Washington, US, v. 809, p. 54, 1920.
- WHITE, G. F. The bacteria of the apiary: with special reference to bee diseases. **US Department of Agriculture, Bureau of Entomology**, Washington, US, v. 14, p. 1 -50, 1906.
- WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH - OIE. Disponível em: <http://oie.int/>. Acesso em: 9 jan. 2019.
- YUE, D. *et al.* Fluorescence in situ hybridization (FISH) analysis of the interactions between honeybee larvae and *Paenibacillus* larvae, the causative agent of American foulbrood of honeybees (*Apis mellifera*). **Environmental Microbiology**, Oxford, GB, v. 10, n. 6, p. 1612–1620, Jun. 2008.